

高效液相色谱法测定龟甲养阴片中 四羟基二苯乙烯苷的含量

张 莉*

(吉林省人民医院, 吉林 长春 130021)

[摘要] 目的:应用高效液相色谱法测定龟甲养阴片中四羟基二苯乙烯苷的含量。方法:采用 Diamonsil(钻石) C₁₈ 柱(5 μm, 250 mm × 4.6 mm); 甲醇-水(38: 62) 为流动相; 流速 1 mL/min; 检测波长为 320 nm。结果:四羟基二苯乙烯苷线性范围为(0.071 6~ 0.358) μg, r= 0.999 7, 回收率为 98.60%, RSD= 0.99%。结论:该方法操作简便、准确、灵敏,可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 四羟基二苯乙烯苷; 龟甲养阴片

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)04-0013-02

龟甲养阴片是由龟甲(制)、覆盆子等 26 味中药

组成的复方制剂。具有养阴软坚,滋补肝肾。用于动脉硬化,阴虚腰痛,胁痛,头晕耳鸣,五心烦热,冠心病等症。方中制何首乌具有补肝肾,益精血,强筋骨等多种功效,我们选择制何首乌中四羟基二苯乙烯苷含量作为本品含量测定的成分指标。本文采用

[收稿日期] 2007-08-10

[通讯作者] * 张莉, Tel: 13630595616; E-mail: jczhangwei@126.com

高效液相色谱法亦对龟甲养阴片中四羟基二苯乙烯苷进行含量测定,以便更好地控制产品的质量,保证安全及疗效。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪; SPD-10A 紫外检测器; KO-250 型超声波处理器; 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品(购于中国药品生物制品检定所,批号: 0844-200003, HPLC 面积归一化法,测定含量为 98.26%); 龟甲养阴片(市售); 甲醇为色谱纯,产于美国,其它试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件^[1,2] 色谱柱: Diamonsil(钻石) C₁₈(5 μm, 4.6 mm × 250 mm), 流动相为甲醇-水(38: 62), 流速: 1 mL·min⁻¹, 紫外检测波长: 320 nm; 理论塔板数按 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰计算应不低于 3 000, 柱温为室温。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品适量, 加 50% 乙醇制成每 1 mL 含 0.02 mg 的溶液, 做为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 研细, 取约 1.5 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入 50% 乙醇 25 mL, 称定重量, 回流提取 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 上清液滤过, 取续滤液, 做为供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备 按处方比例制备不含制何首乌药材的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。分别精密吸取阴性对照溶液、供试品溶液及对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪中, 按色谱条件测定, 结果表明, 阴性对照色谱图中, 与对照品相同保留时间处无干扰。

2.5 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 4, 8, 12, 16, 20 μL 分别注入高效液相色谱仪中进行分析, 以对照品进样量(μg)为横坐标, 以对照品的峰面积为纵坐标, 回归方程为: $Y = 1.56 \times 10^6 X + 1.06 \times 10^4$, $r = 0.9997$, 结果表明四羟基二苯乙烯苷在(0.071 6~ 0.358) μg 间呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液连续 5 次重复进样, 测得相对偏差 RSD= 1.08%。

2.7 稳定性试验 在制得供试品溶液后 0, 2, 4, 6

h, 分别精密吸取供试品溶液 10 μL, 测定。结果四羟基二苯乙烯苷峰面积的 RSD= 1.25%, 表明在 6 h 内供试品溶液的四羟基二苯乙烯苷含量稳定。

2.8 重复性试验 取同一批样品, 按本文方法独立测定 5 次, 依法进样测定, 样品中四羟基二苯乙烯苷含量的 RSD= 1.12%, 结果表明其重复性良好。

2.9 加样回收率试验 精密称取 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品适量, 加入已测 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷含量的龟甲养阴片样品中, 精密加入 50% 乙醇 100 mL, 制得供试品溶液, 进样 5 μL, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 四羟基二苯乙烯苷加样回收率试验测定结果

样品取量 (g)	样品中含 量(mg)	对照品加 入量(mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)
5.203 6	2.288 5	2.09	4.354 2	98.84
5.036 8	2.215 2	2.17	4.384 7	99.98
5.046 2	2.219 3	2.13	4.291 2	97.27
5.018 5	2.207 1	2.11	4.281 0	98.29
5.254 9	2.311 1	2.07	4.352 3	98.61

$\bar{x} = 98.60\%$, RSD= 0.99%

2.10 样品测定 按本文 2.2 与 2.3 项下分别制备对照品溶液和供试品溶液, 按上述色谱条件, 依法进样测定, 共测定 3 批样品, 结果分别为 0.132, 0.134, 0.124(mg/片, $n = 2$)。

3 讨论

在实验中过程中, 曾采用回流提取、超声处理两种制备供试品溶液方法, 并进行了测定分析, 结果表明, 回流提取比超声处理提取完全。

在试验中, 曾选用多种流动相进行试验, 甲醇-水(30: 70)、甲醇-水(65: 35)、甲醇-水(38: 62)等; 最后选用正文所述的液相色谱条件, 可使供试品得到较好分离, 而被采用。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 123.
[2] 吕曙华, 王丽娟, 寿国香, 等. HPLC 法测定七宝美髯丸中四羟基二苯乙烯苷的含量[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(5): 357.